

MAY 23 1960

FISH & WILDLIFE SERVICE



MINISTERIO DE MARINA

ESTUDIOS SOBRE ALGAS INDUS- TRIALES ESPAÑOLAS

*I. Influencia del tratamiento previo sobre el ren-
dimiento y calidad del agar obtenido del gelidium*

por

Jesús Aravio-Torre y Javier Villegas

BOLETÍN DEL

INSTITUTO ESPAÑOL DE OCEANOGRAFIA

N.º 97

MADRID

Mayo 1959

ULTIMOS NUMEROS PUBLICADOS

- 60.—E. JIMENO y A. ARÉVALO : «Acción inhibidora del ácido pirogálico en la corrosión del hierro por el agua del mar».
- 61.—P. BALLE : «Fitoplancton de la bahía de Palma de Mallorca (Año 1952)».
- 62.—B. ANDREU : «Sobre la relación entre el número de branquispinas y la talla en la sardina española (*Sardina pilchardus* (Walb.))».
- 63.—M. OLIVER : «Bionomía de los fondos de 300 a 600 mts. en el Sur y Suroeste de Mallorca...».
- 64.—F. LOZANO CABO : «Notas sobre una Campaña de prospección pesquera en la Mar Chica de Melilla».
- 65.—A. FERNÁNDEZ DEL RIEGO y A. RODRÍGUEZ DE LAS HERAS : «Determinación colorimétrica de la alteración del pescado».
- 66.—FERNANDO LOZANO CABO : «Una campaña de prospección pesquera en Mar Menor (Murcia)».
- 67.—LUIS BELLÓN † : «Historia Natural del Atún, *Thunnus thynnus* (L.). Ensayo de síntesis».
- 68.—PEDRO BALLE : «Análisis cualitativo del fitoplancton de la Bahía de Palma de Mallorca en 1953».
- 69.—JOAQUÍN GÓMEZ DE LLARENA : «Algunos datos sobre sedimentos recogidos por el «Xauen» en la campaña de otoño de 1952».
- 70.—FRANCISCO HERNÁNDEZ PACHECO : «Características del zócalo continental del Africa Occidental española». (Encuadernado con el boletín número 69.)
- 71.—Campañas del «Xauen» en los años 1949 y 1950. Registro de operaciones.
- 72.—GARCÍA PINEDA y DOMINICA MONTEQUI : «Acerca de la sustancia anti-coagulante de las algas rojas.»
- 73.—A. ROJO LUCIO : «Datos sobre la edad del bacalao (*G. callarias* L.), eglefino (*Melanogrammus aeglefinus* L.), colín (*Pollachius virens* L.) y locha (*Urophycis tenuis* Mitch.), con indicación de las técnicas usadas.»
- 74.—LUIS LOZANO y REY : «Sobre el fomento de la producción pesquera de las aguas marinas y salobres confinadas; en el litoral de España y en el de sus Territorios de Soberanía y de Protectorado.»
- 75.—A. R. DE LAS HERAS, R. LÓPEZ COSTA, F. CABAÑAS, L. RODRÍGUEZ MOLINS y J. BESADA : «Análisis de fondos de la Bahía de Cádiz.»
- 76.—ANGELES ALVARIÑO : «Estudio del zooplancton recogido en la campaña del «Vendaval», en Terranova. Marzo, abril y mayo de 1953.»
- 77.—ANGELES ALVARIÑO : «Zooplancton de Terranova (febrero, marzo y junio de 1955)». (Encuadernado con el Boletín núm. 76.)
- 78.—ANTONIO FERNÁNDEZ DEL RIEGO : «El contenido en carbono orgánico en los sedimentos de la ría de Vigo. Algunos datos sobre la relación carbono-nitrógeno.»
- 79.—D. MONTEQUI y M.^a D. GARCÍA PINEDA : «Algunas observaciones acerca

(Sigue en tercera página de la cubierta.)

ESTUDIOS SOBRE ALGAS INDUSTRIALES ESPAÑOLAS.

I. — *Influencia del tratamiento previo sobre el rendimiento y calidad del Agar obtenido del Gelidium.*

POR

JESUS ARAVIO-TORRE Y JAVIER VILLEGAS

ESTUDIOS SOBRE ALGAS INDUSTRIALES ESPAÑOLAS.

I.—*Influencia del tratamiento previo sobre el rendimiento y calidad del Agar obtenido del Gelidium.*

El aprovechamiento industrial de las algas rojas españolas comienza en los primeros años de la segunda guerra mundial. La necesidad de agar para las preparaciones bacteriológicas hizo que en España, como en otros países europeos, se recurriese al estudio de las especies indígenas, para ver de obtener a partir de ellas un producto con características semejantes a las del agar japonés, que era el que se venía utilizando y que a causa de la última conflagración se dejó de recibir en Europa.

Las especies empleadas como materia prima para la obtención del agar español son las del género *Gelidium*, algas relativamente abundantes en nuestras costas de Galicia, Santander y Asturias. Los primeros ensayos para la fabricación industrial del producto se hicieron conforme al método japonés, que consiste, a grandes rasgos, en secado del alga, decoloración al sol, cocción en medio ácido, filtrado de la disolución obtenida, gelificación a la temperatura ambiente, obteniendo lo que los japoneses denominan "tokoroten"; en fin, congelación y descongelación sucesiva al aire. Los japoneses aprovechan las bajas temperaturas invernales nocturnas para congelar, y descongelan después al sol.

En el transcurso de estos años se ha ido perfeccionando en

España la fabricación con el empleo de frigoríficos adecuados, túneles de desecación, hidroextractores para el escurrido del producto y otros elementos industriales. Gracias a estas mejoras se ha llegado a alcanzar una producción de agar de interés nacional, tanto por lo que respecta a su calidad como a su cantidad.

Al Instituto Español de Oceanografía se le asignó desde el primer momento la tarea de reconocer las instalaciones industriales para la obtención de productos derivados de algas y dictaminar si éstas tienen un mínimo de capacidad que se estime de interés nacional. Este frecuente contacto con la industria de algas nos ha impulsado a comenzar una serie de ensayos de tipo industrial que, al mismo tiempo que pueden servir para un mejor conocimiento de los diversos problemas que atañen a la industrialización de las algas, conduzcan acaso a mejoras en el proceso de fabricación.

En esta primera comunicación vamos a exponer los resultados obtenidos, en la calidad y rendimiento del agar, en función de los diferentes tratamientos previos a que se somete el alga. La materia prima utilizada para llevar a cabo todos los ensayos proviene de una sola partida de alga, del género *Gelidium*, que nos fué suministrada por una firma industrial. El método seguido al principio por nosotros en el Laboratorio para la obtención del agar, y sobre el que hemos hecho las modificaciones que expondremos, es en esencia el utilizado por la industria española. En la conocida obra de Chapmann (1) se describe el procedimiento utilizado por la industria americana, muy similar al adoptado en España. En él se verifica la extracción a presión, técnica que nosotros también hemos empleado en algunos de nuestros ensayos. En lo referente a la relación que guardan el volumen de líquido ácido y el peso de alga en la cocción, y dada la discrepancia de los datos suministrados por los industriales, hemos adoptado la que aconsejan Marshall, Newton y Orr (2), por una parte, y Irving y Field (3) por otra. Consignan respectivamente 5 gramos de algas para 250 cc. de agua y 50 veces aproximadamente el peso de agua para la cantidad de alga empleada; es decir, coinciden en la dilución inicial.

He aquí nuestro modo de proceder: 10 gramos de algas secas son dejadas en contacto con 500 cc. de agua alcalinizada con carbonato sódico, después lavadas y llevadas a un vaso de

dos litros, donde se las somete a una ebullición con 500 cc. de agua acidificada con ácido tartárico. El agua perdida por evaporación era compensada por adición de agua caliente. La solución resultante se vierte, pasándola a través de una gasa, sobre una bandeja metálica y se deja enfriar para dar lugar a la formación de un gel. Este se pasa a una frigorífica, donde se lleva a cabo la congelación a unos -15°C . El molde de hielo formado se deja deshelar al aire y a continuación se seca el producto sobre papel de filtro colocado en el radiador de la calefacción.

Sobre estas líneas generales se han encuadrado las variaciones siguientes:

1. Emplear los 10 gramos de algas decoloradas o sin decolorar.

2. Por lo general, las algas eran tratadas con 500 cc. de agua y adicionadas de solución de carbonato sódico al 10 % (10 gramos de carbonato anhidro más 100 cc. de agua) hasta viraje en presencia de fenolftaleína. Se gastaban 2 cc. de dicha solución. Líquido y algas se dejaban en contacto unas 20 horas a la temperatura ambiente. En algunas experiencias se eliminó el carbonato sódico y se variaron el tiempo y la temperatura.

3. La extracción del agar se realizó en 500 cc. de agua acidificados con 1 cc. de solución de ácido tartárico (10 gramos de tartárico en 100 cc. de agua). El tiempo de extracción fué de cuatro horas a ebullición y se llevaron a cabo dos extracciones para cada carga. La cantidad de tartárico consignada fué la que aconsejan las experiencias previas como medio de lograr el pH óptimo. Tan sólo se varió el tiempo en los casos de extracciones a presión.

4. El tiempo asignado a la gelificación fué de 20 horas en todos los casos, y el de congelación, 24. El producto obtenido se desecó a peso constante.

Como ya hemos dicho, el pH óptimo se fijó por ensayos previos. Iniciamos éstos con el uso de una solución de concentración ácida relativamente alta, 500 cc. de agua más 10 cc. de solución de ácido tartárico de la concentración indicada anteriormente, y fuimos disminuyendo la concentración ácida en los ensayos sucesivos. Con las primeras pruebas obtuvimos líquidos que no llegaron a gelificar; no así en las llevadas a cabo con acideces mucho más bajas. La concentración óptima en-

contrada, y que se ha mantenido constante en el resto de nuestras experiencias, ha sido la de una solución obtenida al agregar a 500 cc. de agua 1 cc. de una disolución preparada con 10 gramos de ácido tartárico en 100 cc. de agua. R. Tschudy y M. C. Sargent (4) han estudiado el rendimiento en agar en función del pH en las especies *Gelidium cartilagineum*, *Pterocladia*, *Endocladia muricata* y *Gigartinas*. Onokhin (5) da un pH aproximado de 2,3 para la coagulación óptima y punto isoelectrico del agar.

La decoloración previa del alga por riego con agua dulce y exposición al sol, ha sido experimentada por nosotros para relacionarla con el rendimiento y la calidad del agar obtenido. Alguna alusión a este punto puede encontrarse en la bibliografía (cita 3, pág. 4). Para nuestro estudio procedimos al blanqueo de una porción de nuestra materia prima exponiéndola al aire y al sol, irrigándola de vez en cuando con agua dulce hasta conseguir una decoloración completa. Los valores medios en el rendimiento en agar, obtenidos en ensayos paralelos con algas sin decolorar y decoloradas, fueron los siguientes:

Algas sin decolorar dieron 26,3 %; suma de los porcentajes obtenidos en la primera y segunda extracción: 18,6 y 7,7.

Algas decoloradas: 39,5 %; suma de 29,8 y 9,7.

Las diferencias en los rendimientos son tan marcadas que nos impulsaron a realizar una nueva decoloración sobre la materia prima de que disponíamos, teniendo en cuenta el factor tiempo. Para ello dispusimos las algas sin decolorar en la ventana de nuestro laboratorio y mediante riegos sucesivos con agua dulce y removiéndolas, para llevar a cabo una decoloración por igual, las mantuvimos allí durante 48 horas. Estos dos días fueron soleados y la orientación de la ventana es al mediodía.

Los resultados medios obtenidos con algas sin decolorar y decoloradas (dos días) fueron:

Algas sin decolorar: 28,8 %; suma de 20,0 y 8,8.

Algas decoloradas: 33,6 %; suma de 25,0 y 8,6.

Se sigue acusando una diferencia en los rendimientos, aunque en menor cuantía que los obtenidos anteriormente. Una posible explicación a esta menor diferencia, pudiera ser debida a no haber alcanzado en este tiempo el alga una decoloración total. Para poner de manifiesto esta afirmación procedimos a

continuar la decoloración de las algas hasta completar un período de tiempo de cuatro días. Los dos últimos días estuvieron nublados. Los resultados medios obtenidos han sido:

Algas sin decolorar: 27,4 %; suma de 20,1 y 7,3.

Algas decoloradas (4 días): 38 %; suma de 28,8 y 9,5.

Los resultados obtenidos en estos últimos ensayos muestran un aumento progresivo en el rendimiento a medida que crece el tiempo de la decoloración. Vemos, pues, que un factor importante en el mayor rendimiento del agar es la decoloración del alga, ya que en todos los ensayos hemos obtenido siempre decolorando mayores cantidades de agar que con las algas sin decolorar. Pudieran extrañar las diferencias en los rendimientos medios de las tres series de ensayos realizados con algas sin decolorar, ya que al proceder del mismo modo eran de esperar resultados parecidos. Téngase en cuenta, sin embargo, que un procedimiento de tipo industrial está sujeto siempre a factores no fáciles de controlar.

En lo que respecta al lavado previo, se realizaron ensayos variando el tiempo de permanencia de la materia prima en el medio alcalino y la temperatura. Como al parecer este tratamiento está íntimamente ligado con el proceso de decoloración, se determinó el contenido de materias solubles en las muestras de jaleas antes de congelarlas. Para ello fueron tomadas cantidades pesadas de las mismas y por evaporación en baño de maría y posterior secado en estufa a 110° hasta pesada constante, se calculó el total de materia extraída. Con estos datos obtenemos las impurezas que lleva el agar en las jaleas.

En unos ensayos se trataron las algas decoloradas y sin decolorar con la misma concentración de carbonato sódico durante 15 minutos a ebullición e inmediatamente fueron lavadas y llevadas al proceso de extracción. Con respecto al rendimiento, nos encontramos con que, en el caso de algas sin decolorar, se obtiene el valor más bajo de los encontrados en todos los ensayos, lo que parece indicar que el tratamiento en caliente no ha compensado el menor tiempo de permanencia de la materia prima en la solución y por lo tanto la extracción no ha sido tan completa. Al interpretar así este hecho suponemos que durante el tiempo que el alga permanece en contacto de la solución parece que hay un proceso de ablandamiento o hidrólisis del agar, que, como se sabe, se encuentra en las paredes de la cé-

lula. En las algas decoloradas, por el contrario, se acusa una disminución del rendimiento. En los líquidos de este lavado alcalino aparecen algunos grumos, que nos hacen pensar si ha habido un principio de extracción de agar. La explicación pudiera ser la de que el alga, durante el período de decoloración por riego y acción de los rayos solares, ha sufrido asimismo un ablandamiento o hidrólisis, por el cual se encuentra en condiciones óptimas para llevar a cabo su extracción. E. J. Ferguson Wood (6) asegura, en experiencias efectuadas con "Gracilaria", que el alga que no haya sido previamente secada no da gel, lo que viene en apoyo de nuestra explicación.

Otros ensayos han consistido en introducir las algas decoloradas o sin decolorar en carbonato sódico a la misma concentración una vez que la disolución de éste estaba hirviendo, manteniéndola durante cinco minutos y dejándola enfriar y en contacto durante 20 horas. Procediendo así, en las algas sin decolorar se obtuvo un rendimiento que figura entre los más elevados. Estos resultados confirman lo anteriormente expuesto, ya que a los efectos de la permanencia del alga en contacto con la solución por espacio de 20 horas, hay una mayor hidrólisis producida por superior temperatura inicial. En el caso de las algas decoloradas, la solución alcalina al cabo de las 20 horas presentaba grandes masas de gel, lo que nos obligó a no continuar la extracción. Finalmente se realizaron ensayos en los que el tratamiento previo se limitó a introducir la materia prima en agua dulce y dejar en contacto durante 20 horas. No parece que afecte al rendimiento esta eliminación del carbonato sódico en el lavado. No ocurre así en lo que respecta a las impurezas del agar en la jalea, ya que en estos ensayos se acusa un notable incremento de las mismas.

Algunos industriales españoles tienen instalaciones para extraer el agar a presión. También en el método americano se hace la extracción en autoclave (1), pág. 103, y (7), siendo la presión del orden de 15 libras por pulgada. Nosotros, en el laboratorio, hemos realizado extracciones con presión variable, entre 1 kg/cm^2 y $0,5 \text{ kg/cm}^2$, y con tiempos de extracción entre una y dos horas. Hemos adoptado la presión de 1 kg/cm^2 , que casi coincide con la que utiliza la industria americana, ya que una libra por pulgada cuadrada es igual a $0,0703 \text{ kg/cm}^2$.

Los resultados ponen de manifiesto que con tiempos mucho

menores se obtienen rendimientos análogos, lo que sin duda aporta una ventaja para la industria. Más adelante compararemos la calidad de este agar con el obtenido por ebullición a presión normal y veremos que en algunos casos da productos de no tan buena calidad.

En todos los ensayos efectuados por nosotros se han determinado sistemáticamente las concentraciones de agar en las jaleas obtenidas. El porcentaje de las mismas está, como es natural, íntimamente relacionado con el rendimiento en agar. Para los geles obtenidos en primera extracción los valores oscilan entre un mínimo de 0,51 % a un máximo de 0,98 %, y en las segundas extracciones, desde 0,14 % hasta 0,40 %. Estas concentraciones, como puede verse claramente, están muy por debajo de las declaradas por los industriales; claro está que tampoco hemos empleado la misma relación de líquido de extracción a materia prima. En futuros trabajos iremos disminuyendo esta relación para ver si llegamos a obtener la concentración de 1,8, que es el valor que consignan algunos industriales.

Las calidades de agar para la exportación exigen un contenido mínimo de nitrógeno proteínico. Así, los japoneses clasifican su agar en tres clases, según contengan menos del 3, 2 y 1,5 % de proteínas.

Nosotros hemos querido conocer el destino del nitrógeno en las distintas fases del proceso de fabricación del agar. Para ello se determinó, por el procedimiento Kjeldahl, el nitrógeno contenido en la materia prima decolorada y sin decolorar, en los líquidos del tratamiento del alga, antes de la extracción del gel, tanto al emplear agua y solución de carbonato sódico como al usar agua solamente, y por último en el residuo de extracción (algulosa).

ALGAS SIN DECOLORAR

Contenido total de N. en 10 grs. de algas	2,75 por 100	
Nitrógeno que queda en los líquidos del tratamiento previo (CO_3Na_2)	0,48	"
Nitrógeno en la algulosa	2,24	"
Suma del contenido en N. en estos dos últimos	2,72	"
Nitrógeno que queda en los líquidos del tratamiento previo (sin CO_3Na_2)	0,48	"
Nitrógeno en la algulosa	2,00	"
Suma del contenido en N. en estos dos últimos	2,48	"

ALGAS DECOLORADAS

Contenido total de N. en 10 grs. de algas	2,12 por 100
Nitrógeno en los líquidos del tratamiento previo (CO_3Na_2)	0,12 "
Nitrógeno en la algulosa	1,93 "
Suma del contenido en N. de estos dos últimos	2,05 "
Nitrógeno en los líquidos del tratamiento previo (sin CO_3Na_2	0,12 "
Nitrógeno en la algulosa	1,87 "
Suma del contenido en N. en estos dos últimos	1,99 "

Estas determinaciones han sido realizadas por el químico señor Zurita. Por los valores obtenidos se colige que la casi totalidad del nitrógeno se encuentra en los líquidos de lavado y en los residuos finales. Parece que la presencia del carbonato sódico no afecta a la solubilidad de las proteínas. También se puede notar un contenido menor de nitrógeno en las algas decoloradas, el cual lógicamente habrá tenido que ser eliminado por la acción conjunta del agua y el sol durante el período de la decoloración.

La propiedad que posee el agar de formar un gel firme al disolverlo en agua a ebullición y enfriamiento subsiguiente, ha dado lugar a múltiples aplicaciones. No es de extrañar que la dureza o firmeza del gel esté íntimamente relacionada con la calidad del agar. Son numerosos los métodos ideados para la medida de esta dureza (8), (9), (10) y [(2), págs. 70-71].

Como el agar español, así como los de otros países, han sustituido al japonés, hemos creído conveniente utilizar los métodos de la determinación de la dureza usados en Japón. En el "Japanese Agar-Agar Industry" (11) se hace referencia a tres clases de agar para la exportación, relacionadas con la dureza del gel:

FIRMEZA DEL GEL

1. ^a clase	300
2. ^a "	200
3. ^a "	100

El método que utilizan en el Japón para fijar estas clases es el siguiente: "1,5 grs. de agar-agar se mezclan con 100 c. c. de agua, puesto en un vaso. Se deja estar la mezcla durante 15 horas a 20° C. Se coloca sobre el gel resultante un émbolo ligeramente más pequeño en diámetro que el vaso y cuyo peso es de 100 grs., que lleva en su parte inferior un vástago de un área

de 1 cm², y se deja actuar por espacio de 20 segundos. Si el émbolo penetra en el gel, el producto se clasifica no apto para la exportación. Si el émbolo no penetra en el gel, el producto se clasifica como de tercer grado (100) o mejor. A continuación, un peso de 200 grs. se coloca en el émbolo y se repite el ensayo. Si el producto resiste esta prueba, se clasifica como 200, o de segundo grado. Por último, se utilizan 300 grs. de peso, y si el gel tolera este peso, se le clasifica como de primera clase."

En la descripción de este método nada se dice de la ebullición, la cual es imprescindible para la formación del gel, ya que 1,5 grs. de producto puestos en contacto con 100 c. c. de agua y dejados durante 15 horas a 20° no da lugar a la formación de un gel. Por ello hemos adicionado la cantidad pesada de agar a 100 c. c. de agua destilada a ebullición, agitando constantemente, manteniéndola durante 10 minutos y reponiendo con agua caliente las pérdidas ocasionadas por evaporación. Este proceder es el que aconseja la Farmacopea Norteamericana (12).

Teniendo en cuenta las mencionadas prescripciones japonesas, hemos hecho construir en los Talleres Mecánicos de la Uni-

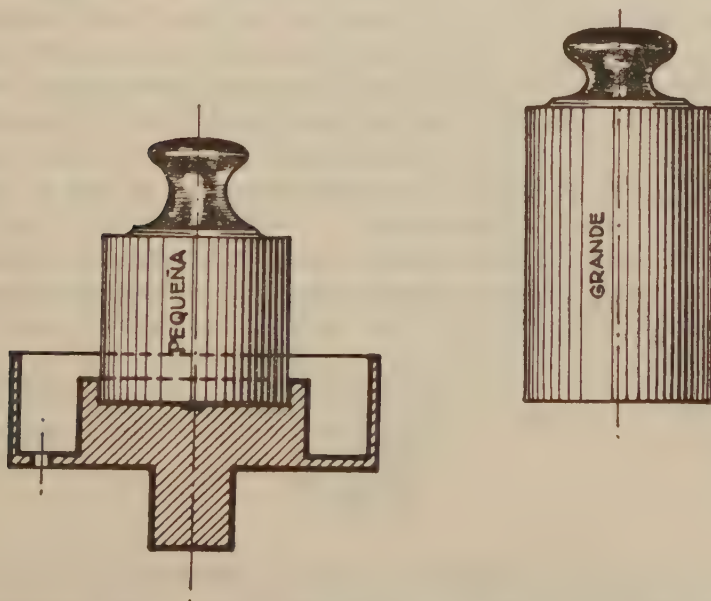


Figura 1

versidad un aparatito que permite diferenciar con rapidez y seguridad el poder gelificante de un agar. Consiste (fig. 1) en un cilindro de latón de un diámetro ligeramente inferior al del vaso en el que se ha de efectuar el ensayo para que se deslice normalmente a la superficie del gel. En la parte inferior del mismo lleva un vástago cilindrico de una longitud de 1 cm y un área de 1 cm.², que se apoya sobre la superficie del gel. En la parte superior tiene un resalte donde se adaptan perfectamente las pesas de latón.

El peso del cilindro es de 100 grs., y el de las pesas adicionales es de 100 y 200 grs., respectivamente. En la figura adjunta está representado un corte del cilindro y de las dos pesas a escala 1.

Comenzamos por realizar ensayos de dureza del gel operando con muestras de agar suministradas por diversas industrias españolas, y siguiendo la marcha anteriormente descrita, obtuvimos en todos los casos geles que resistieron 300 gramos de peso durante los 20 segundos. Por lo tanto, todos estos productos de fabricación nacional son de primera calidad. En los ensayos realizados sobre muestras de agar obtenidas por nosotros en el laboratorio, también los geles resistieron el peso de 300 gramos por 20 segundos. Vemos, pues, que con arreglo a las normas japonesas, todas las muestras de agar, tanto las de fabricación nacional como las obtenidas por nosotros, entran en las calificadas de primera clase. Para poder establecer comparaciones entre las muestras de agar de fabricación española, hemos pensado en disminuir la concentración de agar en la obtención de los geles hasta un valor límite en el que se pueda apreciar diferencias de dureza.

En el cuadro siguiente exponemos los resultados obtenidos operando con un agar español a diferentes concentraciones:

Grs. agar en 100 c.c. agua	Resiste	Se hunde
0,70 grs.	100-200	300
0,75 "	100-200	300
0,80 "	100-200-300	
0,85 "	100-200-300	

Los valores consignados han sido confirmados en ensayos repetidos. Nos ha parecido conveniente repetir esta experiencia

con un agar japonés, cuyos datos expresamos a continuación:

Grs. agar en 100 c. c. agua	Resiste	Se hunde
0,75 grs.		100
0,85 "	100	200
0,95 "	100	200
1,05 "	100	200
1,15 "	100-200	300
1,50 "	100-200-300	

A la vista de los resultados obtenidos, se observa claramente la mejor calidad del agar nacional.

Hemos adoptado, para la comprobación de la dureza de las distintas muestras de agar obtenidas por nosotros en el laboratorio, la concentración de 0,75 gramos por 100 c. c. de agua.

Fueron ensayadas todas las muestras procedentes de la primera extracción y aquellas de la segunda extracción cuyo peso era suficiente para realizar la prueba. Todas las muestras de primera extracción han resistido los 300 gramos, excepto tres, que corresponden: una, en la que en el lavado con solución de carbonato sódico fué sometida a la ebullición durante cinco minutos; otra, en la que el agar se hirvió con la solución de carbonato sódico por espacio de 15 minutos, y la tercera, en que la extracción del gel fué realizada en un autoclave a presión de 1 kg./cm.² durante dos horas.

En las pruebas realizadas con agar procedente de segunda extracción, observamos que la dureza es menor que en las correspondientes a la primera, aunque en otras segundas extracciones la dureza era del mismo grado que las de la primera.

Conviene destacar que la dureza de los geles, según las muestras de agar obtenidas siguiendo el método descrito por nosotros anteriormente y correspondientes a la primera extracción, han resistido en su totalidad el peso de 300 gramos, y que solamente en aquellas en que se ha variado algún factor muestran alguna discrepancia en las calidades.

Departamento de Química Aplicada. Madrid, 30 enero 1959.

BIBLIOGRAFIA

- (1) V. J. CHAPMANN: "Seaweeds and their uses".
- (2) S. M. MARSHALL, L. NEWTON, A. P. ORR: "A study of certain British Seaweeds and their utilisation in the preparation of Agar".
- (3) IRWING A. FIELD: "Sources, preparation and properties of some Algal gelatines".
- (4) R. TSCHUDY y M. C. SARGENT: "Algas productoras de Agar en La Jolla (California)." Contribution n.º 183. Scripps Inst. Ocean. Univ. of California. Marzo 1944.
- (5) I. P. ONOKHIN: "Determinación de la coagulación óptima del Agar a varios valores de pH". Trudy Arkhangel. Vodoroslevogo Nauch-Issledovatel. Inst., Vodorosli Belogo Morya 1938, 228-33; Chem. Zent., 1939, II, 524.
- (6) E. J. FERGUSON WOOD: "The sources of Agar in Australia".
- (7) C. K. TSENG: "America's Agar Industry".
- (8) V. P. PLESKATSEVICK: "Métodos de control para la producción de agar". Anfeltia-Trudy Arkhangel. Vodoroslevogo Nauch Issledovatel. Inst., Vodorosli Belogo Morya 1938, 234-54; Chem. Zentr., 1939, II, 524.
- (9) N. R. JONES: "British Food Manufacturing Industries Research Association". "The Analyst", vol. 81, n.º 961, April 1956.
- (10) "The Extra Pharmacopaeia". Martindale, VII. London, 1955, página 16. "Determination of gel Strength".
- (11) "The Japanese Agar Industry". British Intelligence Objectives Sub-committee, págs. 20-22. 32, Bryanston Square, London, W. 1.
- (12) "Agar". U. S. P. XV, p. 24.

- de la determinación del contenido lipídico en harinas de pescado.» (Encuadrado con el Boletín núm. 78.)
- 80.—MIGUEL OLIVER : «Biología de la sardina de Baleares.»
- 81.—ANGELES ALVARIÑO : «Estudio del Zooplankton del Mediterráneo occidental.»
- 82.—ANGELES ALVARIÑO : «Zooplankton del Atlántico Ibérico. Campañas del «Xauen» en el verano de 1954.» (Encuadrado con el Boletín núm. 81.)
- 83.—«Campañas del «Xauen» en el Mediterráneo español y en las costas noroeste y cantábrica de España en el año 1951.»
- 84.—RAFAEL LÓPEZ COSTA y LORENZO RODRÍGUEZ MOLÍNS : «Determinación colorimétrica del plomo en el mejillón (*Mytilus edulis*) y en el agua de mar de la ría de Vigo.»
- 85.—JOSÉ RAMÓN BESADA RIAL y LORENZO RODRÍGUEZ MOLÍNS : «Determinación colorimétrica del glucógeno en el mejillón (*Mytilus edulis*).» (Encuadrado con el anterior.)
- 86.—LORENZO RODRÍGUEZ MOLÍNS : «Determinación colorimétrica del cobre en el agua de mar y en el mejillón (*Mytilus edulis*).» (Encuadrado con los dos anteriores.)
- 87.—LORENZO RODRÍGUEZ MOLÍNS y JOSÉ RAMÓN BESADA RIAL : «Estudios químicos sobre el mejillón (*Mytilus edulis*) de la ría de Vigo.» (Encuadrado con los tres anteriores.)
- 88.—A. FERNÁNDEZ DEL RIEGO : «Geognosia y Geotectónica de la ría de Vigo.»
- 89.—A. FERNÁNDEZ DEL RIEGO : «Las condiciones de estancamiento en mares interiores, fiords, bahías y rías, con especial referencia a la de Vigo.» (Encuadrado con el anterior.)
- 90.—J. GONZÁLEZ PEÑA : «Estudio comparativo de la fracción «arcilla» de algunos sedimentos del litoral español. Con un Apéndice de J. PÉREZ MATEOS, sobre «Mineralogía de la fracción «arena» de los sedimentos marinos que se estudian.»
- 91.—A. ARÉVALO AROCENA : «La fosfatación «directa» de las estructuras marinas.»
- 92.—A. FERNÁNDEZ DEL RIEGO : «El contenido en carbono orgánico, nitrógeno orgánico, fósforo y hierro en los sedimentos de la ría de Vigo y sus variaciones en relación con la profundidad.»
- 93.—P. BALLE : «Análisis cuantitativo del fitoplancton del puerto de Palma de Mallorca. Durante los años 1954-55.»
- 94.—P. BALLE : «Nuevos datos sobre el desarrollo del fitoplancton del puerto de Palma de Mallorca. (Desde abril de 1956 a diciembre de 1957).» (Encuadrado con el anterior.)
- 95.—P. BALLE : «Análisis cuantitativo del fitoplancton del puerto de Palma de Mallorca. (Desde noviembre de 1953 a marzo de 1956).» (Encuadrado con los dos anteriores.)
- 96.—R. MOLINIER y J. PICARD : «Nota preliminar sobre algunas publicaciones marinas de la isla de Mallorca.» (Encuadrado con los tres anteriores.)

NOTA.—Pedidos y correspondencia al Sr. Secretario del INSTITUTO ESPAÑOL DE OCEANOGRAFÍA, Alcalá, 27. Madrid.

